

Practitioner's Docket No.: 791_167

PATENT

U.S. PRO
JC986 09/17/01
09/17/01
09/17/01

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re the application of: Toshikazu HIROTA, Takao OHNISHI

Filed: Concurrently herewith

For: MICROPIPETTE, DISPENSER AND METHOD FOR PRODUCING BIOCHIP

Box Patent Application
Assistant Commissioner for Patents
Washington, DC 20231

I hereby certify that this paper or fee is being deposited with the United States Postal Service "Express Mail Post Office to Addressee" service under 37 CFR 1.10 addressed to the Box Patent Application, Assistant Commissioner for Patents, Washington D.C. 20231 on October 15, 2001 under "EXPRESS MAIL" mailing label number EV 002151309 US.

Gina M. Husak

CLAIM FOR PRIORITY

Sir:

The benefit of the filing date of the following prior foreign application filed in the following foreign country is hereby requested for the above-identified application and the priority provided in 35 USC 119 is hereby claimed:

Japanese Application 2000-315643 filed October 16, 2000.

In support of this claim, a certified copy of the Japanese Application is enclosed herewith.

Respectfully submitted,

Stephen P. Burr
Reg. No. 32,970

October 15, 2001

Date

SPB/gmh

BURR & BROWN
P.O. Box 7068
Syracuse, NY 13261-7068

Customer No.: 025191
Telephone:(315) 233-8300
Facsimile:(315) 233-8320

日本特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

US PTO
JC986 09/977567
10/15/01
09/60



別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日
Date of Application:

2000年10月16日

出願番号
Application Number:

特願2000-315643

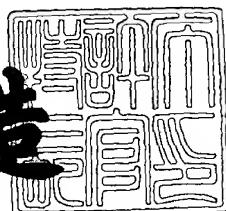
出願人
Applicant(s):

日本碍子株式会社

2001年 9月14日

特許長官
Commissioner,
Japan Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2001-3085421

【書類名】 特許願
 【整理番号】 WP03399
 【提出日】 平成12年10月16日
 【あて先】 特許庁長官 及川 耕造 殿
 【国際特許分類】 B01L 3/02
 【発明の名称】 マイクロピペット、分注装置及びバイオチップの製造方法
 【請求項の数】 22
 【発明者】
 【住所又は居所】 愛知県名古屋市瑞穂区須田町2番56号 日本碍子株式会社内
 【氏名】 廣田 寿一
 【発明者】
 【住所又は居所】 愛知県名古屋市瑞穂区須田町2番56号 日本碍子株式会社内
 【氏名】 大西 孝生
 【特許出願人】
 【識別番号】 000004064
 【氏名又は名称】 日本碍子株式会社
 【代理人】
 【識別番号】 100088616
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 渡邊 一平
 【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 009689
 【納付金額】 21,000円
 【提出物件の目録】
 【物件名】 明細書 1
 【物件名】 図面 1

特2000-315643

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9001231

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 マイクロピペット、分注装置及びバイオチップの製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ピペット本体に、ピペット本体の外部から試料を注入する試料注入入口と、注入された試料を導入しかつ一時貯留し得るキャビティと、貯留された試料をノズル部の貫通孔を経由して外部に吐出する試料吐出口とを形成してなるとともに、ピペット本体のキャビティ形成位置に対応した部位の外面上に圧電／電歪素子を設けてなり、圧電／電歪素子の駆動によりキャビティ内の体積を変化させ、キャビティ内に貯留された試料の一定量を試料吐出口から吐出させるマイクロピペットであって、

ノズル部における貫通孔の、軸方向に対して直角方向の断面形状が、中心から放射状に突き出た3個以上の突起を有するとともに、内角が鋭角と鈍角とを有する多角形状又は突起と突起とを曲線で結んだ王冠形状であり、また、その断面形状の面積（断面積）が、貫通孔の試料導入口端から試料排出口端まで、略相似形を保持しつつ連続的に漸減するように変化してなることを特徴とするマイクロピペット。

【請求項2】 ピペット本体に、ピペット本体の外部から試料を注入する試料注入入口と、注入された試料を導入しかつ一時貯留し得るキャビティと、貯留された試料をノズル部の貫通孔を経由して外部に吐出する試料吐出口とを形成してなるとともに、ピペット本体のキャビティ形成位置に対応した部位の外面上に圧電／電歪素子を設けてなり、圧電／電歪素子の駆動によりキャビティ内の体積を変化させ、キャビティ内に貯留された試料の一定量を試料吐出口から吐出させるマイクロピペットであって、

ノズル部における貫通孔の、軸方向に対して直角方向の断面形状が、貫通孔の試料導入口端から試料排出口端に向かって所定距離離れた第1の地点までは略円形で、かつ試料排出口端では中心から放射状に突き出た3個以上の突起を有するとともに、内角が鋭角と鈍角とを有する多角形状又は突起と突起とを曲線で結んだ王冠形状であり、また、その断面形状の面積（断面積）が、貫通孔の試料導入口端から第1の地点までは略円形を保持しつつ試料排出口端まで連続的に漸減す

るよう変化してなることを特徴とするマイクロピペット。

【請求項3】 前記突起を有する多角形状又は王冠形状の、隣接する突起の頂点と中心とを結んだ直線がなす角度が、1度～120度である請求項1又は2に記載のマイクロピペット。

【請求項4】 前記突起を有する多角形状又は王冠形状の辺の合計長さが、これと同一面積の円の円周長さの1.1倍以上である請求項1～3のいずれかに記載のマイクロピペット。

【請求項5】 前記ノズル部における貫通孔の断面積の、連続的に漸減する変化率が、貫通孔の試料導入口端から試料排出口端に向かって所定距離離れた第2の地点までの変化率よりも、第2の地点から試料排出口端までの変化率の方が大きい請求項1～4のいずれかに記載のマイクロピペット。

【請求項6】 前記ノズル部における貫通孔の内面の表面粗さが、貫通孔の試料導入口端が形成された面のそれよりも粗い請求項1～5のいずれかに記載のマイクロピペット。

【請求項7】 前記ノズル部における貫通孔の試料排出口端近傍の表面が、撥液処理を施されてなる請求項1～6のいずれかに記載のマイクロピペット。

【請求項8】 前記ピペット本体の、少なくともキャビティ形成位置及び圧電／電歪素子設定位置に対応した部位が、ジルコニアセラミックスからなる請求項1～7のいずれかに記載のマイクロピペット。

【請求項9】 前記ジルコニアセラミックスが、グリーンシート積層焼成法を用いて作製されたものである請求項8に記載のマイクロピペット。

【請求項10】 前記ピペット本体の、試料吐出口を形成した部位が、樹脂からなる請求項1～9のいずれかに記載のマイクロピペット。

【請求項11】 前記圧電／電歪素子が、ジルコン酸鉛、チタン酸鉛及びマグネシウムニオブ酸鉛からなる群から選ばれる少なくとも1種の鉛化合物を主成分として含有する圧電／電歪膜から構成された請求項1～10のいずれかに記載のマイクロピペット。

【請求項12】 一つの前記ピペット本体に、複数の前記試料注入口と、複数の前記キャビティと、複数の前記試料吐出口とが形成されてなる請求項1～11の

いずれかに記載のマイクロピペット。

【請求項13】 前記ピペット本体が、複数の第1のピペット部材及び一つの第2のピペット部材から構成され、前記第1のピペット部材には前記キャビティと前記圧電／電歪素子とが形成され、前記第2のピペット部材には複数の前記試料注入口と、複数の前記試料吐出口とが形成され、複数の前記第1のピペット部材と一つの前記第2のピペット部材とが互いに接合されてなる請求項1～11のいずれかに記載のマイクロピペット。

【請求項14】 前記ピペット本体が平板状物から構成されてなり、試料吐出口をこのピペット本体の側面又は主平面に形成してなる請求項1～13のいずれかに記載のマイクロピペット。

【請求項15】 前記ピペット本体が平板状物から構成されてなり、前記試料吐出口をピペット本体の一方の主平面に、かつ、前記試料注入口を他方の主平面に形成してなる請求項1～13に記載のマイクロピペット。

【請求項16】 複数の前記試料注入口を、一つの前記キャビティに接続してなる請求項1～15のいずれかに記載のマイクロピペット。

【請求項17】 請求項1～16のいずれかに記載のマイクロピペットの複数を、固定治具に固定したことを特徴とするマイクロピペット複合体。

【請求項18】 請求項1～16のいずれかに記載のマイクロピペットを複数又は請求項17に記載のマイクロピペット複合体を一つ以上備えてなる分注装置であって、

前記ピペット本体に形成した試料吐出口を縦横に整列配置し、これらの試料吐出口からそれぞれ異種の液体試料を吐出させることを特徴とする分注装置。

【請求項19】 前記試料注入口のそれぞれに、異種の液体試料を別個に充填した第1のカートリッジを備えてなり、試料吐出口から異種の試料を吐出させ得る請求項18に記載の分注装置。

【請求項20】 前記試料注入口のそれぞれに、水性溶媒又は有機溶媒を充填した第2のカートリッジを備えてなり、前記ピペット本体に形成した試料注入口から試料吐出口までの連通空間を洗浄し得る請求項18又は19に記載の分注装置。

【請求項21】 前記ピペット本体に形成した試料吐出口のそれぞれの外側に、試料吐出口の中心軸と共に軸の開口を有する薄板からなる異方飛行滴遮蔽板を設けてなる請求項18～20のいずれかに記載の分注装置。

【請求項22】 請求項1～16のいずれかに記載のマイクロピペット、請求項17に記載のマイクロピペット複合体、又は請求項18～21のいずれかに記載の分注装置を用いたことを特徴とするバイオチップの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、マイクロピペット、分注装置及びDNAマイクロアレイ等のバイオチップの製造方法に関する。さらに詳しくは、所定の基板上に微小体積の液滴を高密度に整列固定する作業（微小スポットの形成作業）を伴うDNAマイクロアレイ等のバイオチップの製造等の分野で好適に用いられる、微小スポットの形成作業の高精細化が可能で、得られる製品品質の向上を図ることができるマイクロピペット、このマイクロピペットを用いた分注装置及びDNAマイクロアレイ等のバイオチップの製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】 近年における遺伝子構造の解析方法の進歩は目覚しく、ヒトの遺伝子を初めとして、多数の遺伝子構造が明らかにされてきている。このような遺伝子構造の解析には、顕微鏡スライドガラス等の基板上に数千から数万種類以上の異種のDNA断片を微小スポットとして整列固定させたDNAマイクロアレイが用いられている。

【0003】 このDNAマイクロアレイの製造における微小スポットの形成方法としては、QUILL方式、ピン&リング方式、又はスプリングピン方式が広く用いられている。いずれの方法を採用した場合であっても、各微小スポットの容量と形状のばらつきを低く抑えて、微小スポット間の距離を一定に保ち、相互混入によるコンタミネーションを防止することが要求されるが、今後のさらなる高密度化に向けて、微小スポットの形成作業のさらなる高精細化、及び得られる製品品質のさらなる向上に対する要望が高まっている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 ここで、QUILL方式は、ピン先に形成した凹部に試料を貯め、ピン先を基板に接触させてことで凹部内の試料を基板上に移して微小スポットを形成する方法であるが、ピン先が基板との接触によって変形したり損傷する等の耐久性の問題や、凹部に貯められた試料の洗浄が不完全となってクロスコンタミネーションを引起し易い等の問題がある。

【0005】 また、ピン&リング方式は、マイクロプレート中の試料溶液をリングでリザーブした後、溶液がリザーブされたリング内側を貫通するようにしてピン先でリング内の試料を捉え、基板上にスポットを形成していく方法であるが、1回にリザーブできる試料はリングの数に依存し、従来、その数は数種類程度であることから、数千種から数万種といった試料の微小スポットを形成するためには、数百から数千回程度の洗浄・乾燥工程もまた必要となり、生産性の面で問題がある。

【0006】 また、スプリングピン方式は、ピン先に付着した試料を、ピン先を基板に押付けることで基板上に移して微小スポットを形成する方法であり、スプリングを内蔵した二重ピン構造で、ピン、基板の損傷をやわらげ、試料を吹き出すものであるが、基本的には1回のリザーブで1回のスポットティングしかできず、やはり生産性に問題がある。

【0007】 これら従来の微小スポットの形成方法は、すべて試料溶液を大気中に曝した状態で基板上に運ぶため、運ぶ途中で試料が乾燥し、スポットティングが出来なくなるといった不具合が生じ、大変高価な試料溶液の使用効率が悪い等の問題がある。

【0008】 上述の微小スポットの形成方法が有する問題の解消を図る方法として、非接触式スポットティング法がある。この方法を用いた、生体試料を微量、精度よく分注する装置として、圧電／電歪素子をマイクロポンプとして使用したマイクロピペット及びこれを用いた分注装置が、開発、実用化されている。

この非接触式スポットティング法は、核酸やアミノ酸等を含んだ生体試料を微小な液滴として空中に吐出し、スライド基板上に付着させるものであり、上述のピン先が基板と接触する方法が有する問題等は解消される。

【0009】 しかしながら、この方法は、比較的粘度の高い生体試料の微小な

液滴を空中に吐出し、スライド基板上に付着させるものであるため、吐出時に、目的とする液滴（目的吐出滴）の他に、いわゆるサテライト（目的吐出滴より細かいしぶき状の滴）が発生し、それが基板上に付着して、本来のスポット形成位置以外の箇所にスポットを形成させたり、微小スポット間の距離を一定に保つことができずに、相互混入によるコンタミネーションを引き起こす等、得られる製品の品質上問題があった。このようないわゆるサテライトは、分注装置の運転初期には発生せずに、しばらく運転してから発生することもあり、工程管理上極めて厄介な問題であった。

【0010】 また、液滴の吐出速度が大きいと、スライド基板に付着する際に液滴の勢いが大きく、しぶき（飛沫）を発生させて、スポット周りにこの飛沫による不要スポット（これもサテライトと呼ぶ）を発生させる等の問題があった。このようないわゆるサテライトの発生を防止するためには、吐出速度を小さくすればよいが、吐出速度を小さくすると、吐出が不安定になるという問題があった。

【0011】 また、スポット形成の高密度化のためには、吐出方向を常に一定（まっすぐ）で安定化する必要がある。このため、吐出ノズルとスライド基板との間の距離を短くして吐出方向のバラツキを低減することは可能であるが、スライド基板そのものの厚さにバラツキがあることに加え、装置自体の機械的精度を高めるためにはコストの上昇を避けることができないという問題があった。

【0012】 また、例えば、DNA等を含んだ生体試料は、粘度が高いものが多く、吐出して付着後は、スライド基板上でスポットが広がらないように速やかに乾燥する特性が要求される。このような試料を用いた場合には、吐出ノズル部分で乾燥したり、増粘し易いため、ノズルが詰まって吐出不能になり易いという問題があった。

【0013】 一方、プリンタに用いられるインクジェット方式を転用してスポットティングする方法も検討されている。例えば、インクを噴出するノズルの孔を、少なくとも1つの角部を有する形状に構成し、この角部の毛管力を利用したインクジェット記録用ヘッド（特開昭59-178258号公報）が開示されている。

しかし、この公報に開示されたヘッドは、ノズルへの気泡の侵入を防止することについては一定の効果を発揮するものの、上述のような、いわゆるサテライトの発生防止等の問題については必ずしも十分に満足し得るものではなかった。

【0014】 また、試料吐出口の形状を、対称性を有する $2n$ 角形（ n は3以上）とし、また、インク路をインク吐出方向と直交する方向の断面形状を台形形状としたインクジェットヘッド（特開平3-101960号公報）が開示されている。

しかし、この公報に開示されたヘッドも、記録の際に必要なインク液滴の量や吐出速度が安定して得られることについては一定の効果を発揮するものの、上述のような、いわゆるサテライトの発生防止等の問題については必ずしも十分に満足し得るものではなかった。

【0015】 さらに、これらの公報に開示された発明の対象は、生体試料のスポット形成を主な対象とするものではないことから、これらの公報に開示されたものをそのまま転用するには困難な問題があった。すなわち、このようなインクジェット記録用ヘッドに、数千から数万といった試料を個別の流路で形成することは、サイズ的、コスト的に課題が多く、さらにインクジェット方式は、スポットティング前にそのポンプ内に予め試料を気泡を含むことなく充填する必要があり、そのため、大量のページ用試料が必要となり、試料の使用効率が極めて劣る等の問題があった。また、一般的には、ポンプ室を含む流路中は高速に液体が移動する方が気泡抜けには都合がよいが、生体試料、例えば、デリケートなDNA溶液を用いる場合は、試料が流路中で攪拌されることとなり、DNAが損傷する等の問題があった。

【0016】 本発明は、上述の問題に鑑みてなされたものであり、所定の基板上に微小体積の液滴を高密度に整列固定する作業（微小スポットの形成作業）を伴うDNAマイクロアレイ等のバイオチップの製造等の分野で好適に用いられる、微小スポットの形成作業の高精細化が可能で、得られる製品品質の向上を図ることができるマイクロピペット、このマイクロピペットを用いた分注装置及びバイオチップの製造方法を提供することを目的とする。

【0017】

【課題を解決するための手段】 上記目的を達成するため本発明によれば、下記のマイクロピペット、このマイクロピペットを用いた分注装置及びバイオチップの製造方法が提供される。

【0018】

[1] ピペット本体に、ピペット本体の外部から試料を注入する試料注入口と、注入された試料を導入しあつ一時貯留し得るキャビティと、貯留された試料をノズル部の貫通孔を経由して外部に吐出する試料吐出口とを形成してなるとともに、ピペット本体のキャビティ形成位置に対応した部位の外面上に圧電／電歪素子を設けてなり、圧電／電歪素子の駆動によりキャビティ内の体積を変化させ、キャビティ内に貯留された試料の一定量を試料吐出口から吐出させるマイクロピペットであって、ノズル部における貫通孔の、軸方向に対して直角方向の断面形状が、中心から放射状に突き出た3個以上の突起を有するとともに、内角が鋭角と鈍角とを有する多角形状又は突起と突起とを曲線で結んだ王冠形状であり、また、その断面形状の面積（断面積）が、貫通孔の試料導入口端から試料排出口端まで、略相似形を保持しつつ連続的に漸減するように変化してなることを特徴とするマイクロピペット。

【0019】

[2] ピペット本体に、ピペット本体の外部から試料を注入する試料注入口と、注入された試料を導入しあつ一時貯留し得るキャビティと、貯留された試料をノズル部の貫通孔を経由して外部に吐出する試料吐出口とを形成してなるとともに、ピペット本体のキャビティ形成位置に対応した部位の外面上に圧電／電歪素子を設けてなり、圧電／電歪素子の駆動によりキャビティ内の体積を変化させ、キャビティ内に貯留された試料の一定量を試料吐出口から吐出させるマイクロピペットであって、ノズル部における貫通孔の、軸方向に対して直角方向の断面形状が、貫通孔の試料導入口端から試料排出口端に向かって所定距離離れた第1の地点までは略円形で、かつ試料排出口端では中心から放射状に突き出た3個以上の突起を有するとともに、内角が鋭角と鈍角とを有する多角形状又は突起と突起とを曲線で結んだ王冠形状であり、また、その断面形状の面積（断面積）が、貫通孔の試料導入口端から第1の地点までは略円形を保持しつつ試料排出口端まで

連続的に漸減するように変化してなることを特徴とするマイクロピペット。

【0020】

[3] 前記突起を有する多角形状又は王冠形状の、隣接する突起の頂点と中心とを結んだ直線がなす角度が、1度～120度である前記〔1〕又は〔2〕に記載のマイクロピペット。

【0021】

[4] 前記突起を有する多角形状又は王冠形状の辺の合計長さが、これと同一面積の円の円周長さの1.1倍以上である前記〔1〕～〔3〕のいずれかに記載のマイクロピペット。

【0022】

[5] 前記ノズル部における貫通孔の断面積の、連続的に漸減する変化率が、貫通孔の試料導入口端から試料排出口端に向かって所定距離離れた第2の地点までの変化率よりも、第2の地点から試料排出口端までの変化率の方が大きい前記〔1〕～〔4〕のいずれかに記載のマイクロピペット。

【0023】

[6] 前記ノズル部における貫通孔の内面の表面粗さが、貫通孔の試料導入口端が形成された面のそれよりも粗い前記〔1〕～〔5〕のいずれかに記載のマイクロピペット。

【0024】

[7] 前記ノズル部における貫通孔の試料排出口端近傍の表面が、撥液処理を施されてなる前記〔1〕～〔6〕のいずれかに記載のマイクロピペット。

【0025】

[8] 前記ピペット本体の、少なくともキャビティ形成位置及び圧電／電歪素子設定位置に対応した部位が、ジルコニアセラミックスからなる前記〔1〕～〔7〕のいずれかに記載のマイクロピペット。

【0026】

[9] 前記ジルコニアセラミックスが、グリーンシート積層焼成法を用いて作製されたものである前記〔8〕に記載のマイクロピペット。

【0027】

[10] 前記ピペット本体の、試料吐出口を形成した部位が、樹脂からなる前記[1]～[9]のいずれかに記載のマイクロピペット。

【0028】

[11] 前記圧電／電歪素子が、ジルコン酸鉛、チタン酸鉛及びマグネシウムニオブ酸鉛からなる群から選ばれる少なくとも1種の鉛化合物を主成分として含有する圧電／電歪膜から構成された前記[1]～[10]のいずれかに記載のマイクロピペット。

【0029】

[12] 一つの前記ピペット本体に、複数の前記試料注入口と、複数の前記キャビティと、複数の前記試料吐出口とが形成されてなる前記[1]～[11]のいずれかに記載のマイクロピペット。

【0030】

[13] 前記ピペット本体が、複数の第1のピペット部材及び一つの第2のピペット部材から構成され、前記第1のピペット部材には前記キャビティと前記圧電／電歪素子とが形成され、前記第2のピペット部材には複数の前記試料注入口と、複数の前記試料吐出口とが形成され、複数の前記第1のピペット部材と一つの前記第2のピペット部材とが互いに接合されてなる前記[1]～[11]のいずれかに記載のマイクロピペット。

【0031】

[14] 前記ピペット本体が平板状物から構成されてなり、試料吐出口をこのピペット本体の側面又は主平面に形成してなる前記[1]～[13]のいずれかに記載のマイクロピペット。

【0032】

[15] 前記ピペット本体が平板状物から構成されてなり、前記試料吐出口をピペット本体の一方の主平面に、かつ、前記試料注入口を他方の主平面に形成してなる前記[1]～[13]に記載のマイクロピペット。

【0033】

[16] 複数の前記試料注入口を、一つの前記キャビティに接続してなる前記[1]～[15]のいずれかに記載のマイクロピペット。

【0034】

〔17〕 前記〔1〕～〔16〕のいずれかに記載のマイクロピペットの複数を、固定治具に固定したことを特徴とするマイクロピペット複合体。

【0035】

〔18〕 前記〔1〕～〔16〕のいずれかに記載のマイクロピペットを複数又は前記〔17〕に記載のマイクロピペット複合体を一つ以上備えてなる分注装置であって、前記ピペット本体に形成した試料吐出口を縦横に整列配置し、これらの試料吐出口からそれぞれ異種の液体試料を吐出させることを特徴とする分注装置。

【0036】

〔19〕 前記試料注入口のそれぞれに、異種の液体試料を別個に充填した第1のカートリッジを備えてなり、試料吐出口から異種の試料を吐出させ得る前記〔18〕に記載の分注装置。

【0037】

〔20〕 前記試料注入口のそれぞれに、水性溶媒又は有機溶媒を充填した第2のカートリッジを備えてなり、前記ピペット本体に形成した試料注入口から試料吐出口までの連通空間を洗浄し得る前記〔18〕又は〔19〕に記載の分注装置

【0038】

〔21〕 前記ピペット本体に形成した試料吐出口のそれぞれの外側に、試料吐出口の中心軸と共に軸の開口を有する薄板からなる異方飛行滴遮蔽板を設けてなる前記〔18〕～〔20〕のいずれかに記載の分注装置。

【0039】

〔22〕 前記〔1〕～〔16〕のいずれかに記載のマイクロピペット、前記〔17〕に記載のマイクロピペット複合体、又は前記〔18〕～〔21〕のいずれかに記載の分注装置を用いたことを特徴とするバイオチップの製造方法。

【0040】

【発明の実施の形態】 以下、本発明の実施の形態を図面を参照しつつ具体的に説明する。

I. マイクロピペット

図1 (a) に示すように、本発明のマイクロピペット10は、ピペット本体1に、ピペット本体1の外部から試料を注入する試料注入口2と、注入された試料を導入しあつ一時貯留し得るキャビティ3と、貯留された試料をノズル部4の貫通孔5を経由して外部に吐出する試料吐出口6とを形成してなるとともに、ピペット本体1のキャビティ3形成位置に対応した部位の外面上に圧電／電歪素子7を設けてなり、圧電／電歪素子7の駆動によりキャビティ3内の体積を変化させ、キャビティ3内に貯留された試料の一定量を試料吐出口6から吐出させるマイクロピペット10である。

【0041】 具体的には、ノズル部4は、一つ以上の貫通孔5からなる試料吐出口6が設けられた薄肉平板状のノズルプレート11をP E T樹脂シートで形成することができる。なお、ノズル部4（貫通孔5）は、通常、金型等の打ち抜き等の機械加工によって形成してもよいが、その材質がP E T、ポリイミド等の樹脂の場合は、レーザー（例えば、エキシマレーザー、高次（3次以上）のY A G レーザー）加工を好適に用いることができる。貫通孔の軸方向に対して直角方向の断面形状の形成にはレーザーのビームを形状に沿って移動させる、いわゆるビームスキャン法又は予め断面形状の相似形状を形成したマスクをレーザー照射軸の途中にセットする、いわゆるマスク法を用いることができる。中でも、同時に多数の貫通孔が形成できるマスク法が好ましい。一方、ポンプ部12は、1個以上の窓部13が形成されたスペーサプレート14と、スペーサプレート14の一方の側に重ね合わされて窓部13を覆蓋する閉塞プレート15とを、同じくそれぞれジルコニアセラミックスのグリーンシートで形成し、全体を積層し、一体焼成して、ピペット本体1が構成されている。なお、閉塞プレート15には試料注入口2が設けられ、スペーサプレート14に形成されている窓部13に連結する導入孔16、連通路17へとつながっている。そして、閉塞プレート15の外面上には、下部電極20、圧電／電歪膜19及び上部電極18からなる圧電／電歪素子7が形成されたものを挙げることができる。

【0042】 上記のような構成のマイクロピペットによれば、上部電極18と下部電極20との間に電界が生じると、圧電／電歪素子7が変形し、窓部13が

覆蓋されて形成されたキャビティ（加圧室）3の容積が減少することにより、キャビティ3内に充填された試料（DNA断片等を含む液体）がキャビティ3に連通する試料吐出口6から所定速度で吐出され、顕微鏡スライドガラス等の基板上の微小スポットとして整列固定させたDNAマイクロアレイ等のバイオチップを作製することができる。なお、図1（a）、（b）に示すような、いわゆるインクジェット方式の装置構造は、例えば、特開平6-40030号公報に記載されている。

【0043】 上記した構成のマイクロピペットにおいては、キャビティ（加圧室）3内において、DNA断片等を含む液体試料が層流で移動するような形状、流路寸法に形成されていることが好ましい。

【0044】 具体的なキャビティの一例を、図1（c）に従って説明する。キャビティ3の形状は、図1（c）に示すように長尺形状でその一端に試料を導入する試料注入口2又は導入孔22があり、他端に試料吐出口6が連結されている。このような形状にすることにより、キャビティ3を試料注入口2から試料吐出口6に至る流路の一部として、試料注入口2から、又は試料注入口2から連通路21、導入孔22を経てキャビティ3内に移動する試料の流れを乱すことなく試料吐出口6へ導くことができる。具体的なキャビティ3の寸法は、試料の種類、作成する液滴の大きさ、形成密度により異なるが、例えば、塩基対長1～10000bpのDNA断片を $1\mu g/\mu l$ の濃度で×1TE緩衝液（10mM Tris-HCl（pH 8.0） 1mM EDTA）に分散させた試料を数百ミクロンピッチで数十～百数十ミクロンφ液滴径のスポットティングが必要とされるDNAマイクロアレイ等のバイオチップの製造用マイクロピペットの場合は、キャビティ長（L）は、1～5mm、キャビティ幅（W）は、0.1～1mm、キャビティ深さ（D）は、0.1～0.5mmが好ましい。またキャビティ内壁には、流れを乱す突起物がないように滑らかであることがよく、その材質は、試料溶液と親和性のよいセラミックスからなることが好ましい。

【0045】 本発明を上述の構成とすることにより、圧電／電歪素子の一つ一つの駆動に対応して微小量液体が試料吐出口より吐出され、その容積を微小かつバラツキのない一定のものとすることができます。駆動周期は、圧電／電歪素子を

用いることにより、高周波対応可能となり、吐出に要する時間も短縮することができる。また試料注入後吐出までの間、試料は閉空間内を移動するため、途中で乾燥することができない。さらには、ピペット本体全体を小さくコンパクトに形成することができるため、試料が移動する流路を短くすることができ、流路壁に試料が付着し使用効率を劣化させることを低減することができる。

【0046】 本発明のマイクロピペットにおいては、キャビティ内に予め緩衝液や生理食塩水等の置換液を充填し、次いで、試料を試料導入孔からキャビティ内に層流置換させながら注入した後、圧電／電歪素子を駆動させキャビティ内の試料を試料吐出口から吐出させてもよい。層流置換完了の終点は、試料の移動する速度、体積を予め求めておき、置換時間で制御してもよいが、キャビティ内の流体特性の変化を検知することにより把握することがさらに好ましい。なお、圧電／電歪素子を駆動させながら試料を試料導入孔からキャビティ内に層流置換させてもよい。予め安価な置換液によりキャビティ内を確実に置換後、高価な試料を層流置換することにより、吐出不良の発生が完全に防止でき、高価な試料を効率よく吐出できる。

さらに、本発明のマイクロピペットにおいては、キャビティ内に予め緩衝液や生理食塩水等の置換液を充填し、次いで、試料を試料導入孔からキャビティ内に置換させながら注入し、置換完了の終点を、キャビティ内の流体特性の変化を検知することにより把握したことにより、キャビティ内の流体特性の変化を検知することにより把握した後、圧電／電歪素子を駆動させキャビティ内の試料を試料吐出口から吐出させることができ。キャビティ内の流体特性の変化を検知することにより置換完了を把握することにより、流路内で試料と置換液が多少混合しても、その混合している部分と混合していない部分の区別が容易にかつ精度よくできるため、置換液と混合してページしなければならない試料の量を少なくすることができ、試料の使用効率を上げることができる。

【0047】 また、キャビティ内の流体特性の変化は、圧電／電歪素子に振動を励起する電圧を印加し、その振動に伴う電気的定数の変化を検出することにより把握することが好ましい。このようにすることで、特別な検出素子等を設置する必要もなく、安価で、高精度な検出をすることができる。

【0048】 図2に示すように、本発明のマイクロピペットのノズル部におけ

る貫通孔5の軸方向に対して直角方向の断面形状の面積（断面積）は、貫通孔の試料導入口端23から試料排出口端24まで、略相似形を保持しつつ連続的に漸減するように変化するように構成されている。すなわち、試料導入口端23における断面積は、例えば、図2に示すB-B線における断面積、及びC-C線断面積を経由して、試料排出口端24における断面積まで連続的に漸減する。

このように構成することによって、試料導入口端23で乱れていた試料の流れ（試料の流速が同一断面内ではらついている）を、試料排出口端24に到達するまでに整流することができるため、吐出方向を安定化することができるとともに、試料排出口端24での試料の流速を効率的に高めることができ、吐出に際しての液滴の切れが向上するため、いわゆる、サテライトの発生も防止することができる。

【0049】 図3 (a)、(b) 及び図4に示すように、貫通孔の軸方向に対して直角方向の断面（例えば、図2のB-B線断面）形状は、中心Oから放射状に突き出た3個以上の突起8を有するとともに内角が鋭角と鈍角とを有する多角形又は突起と突起とを曲線で結んだ王冠形状になるように構成されている。

このように構成することによって、試料排出口端24から外部に吐出された液滴は、吐出直後においては貫通孔5の形状に対応して突起を有する形状となった後、速やかにその表面張力で球状に収約するため、この表面張力の作用によってノズル部の貫通孔5から吐出された液滴の切れが向上する（迅速に一つの液滴となる）こととなり、液滴の後部で、液滴が細かく分離する、いわゆるサテライトの発生を防止することができる。

また、突起8により、試料の流れを整流することができるため、吐出方向を安定化することができる。

なお、上記吐出方向の安定性向上及びサテライトの発生防止に効果のある貫通孔5の断面積の漸減及び所定形状の設定は、それぞれ単独で行っても効果はあるが、同時に行うことによって、さらに顕著な効果を發揮することになる。

ところで、図3 (a)、(b) に示す多角形状又は王冠形状の突起部形状は、必ずしも図に示すような先鋭形状をなしている必要はなく、ノズル部の材質、加工法、加工機械の精度により、先端が鈍ったものであってもよい。

【0050】 図5(a)、(b)及び図6に示すように、本発明のマイクロピペットは、ノズル部における貫通孔5の、軸方向に対して直角方向の断面形状が、貫通孔5の試料導入口端23から試料排出口端24に向かって所定距離離れた第1の地点（図5ではD-D線で示す）までは略円形で、かつ第1の地点（D-D線）から試料排出口端24までは中心から放射状に突き出た3個以上の突起8を有するとともに、内角が鋭角と鈍角とを有する多角形状又は突起と突起とを曲線で結んだ王冠形状であり（図3(a)、(b)参照）、また、その断面形状の面積（断面積）が、貫通孔の試料導入口端23から第1の地点（D-D線）までは略円形を保持しつつ試料排出口端24まで連続的に漸減するように構成したものであってもよい。ここで、第1の地点の範囲としては、試料導入口端23と試料排出口端24との中間であって、試料導入口端23から試料排出口端24までの距離を1とした場合、試料導入口端23から、0.1～0.7のところが好ましい。0.1未満であると、試料導入口端23の断面形状（円形）を安定して形成できないことがある。また、0.7を超えると、突起形状の整流効果が不十分となることがある。

このように構成することによって、上述のように、試料排出口端24における突起形状に起因して、ノズル部の貫通孔から吐出された液滴の切れが向上する（迅速に1つの液滴となる）ため、液滴の後部で、液滴が細かく分離する、いわゆるサテライトの発生を防止することができる。また、試料導入口端23が略円形であることによって、キャビティからの圧力及び試料の流れが均一にノズル部に伝達されるとともに、第1の地点から試料排出口端24までの突起形状による整流効果によって、試料に吐出方向を安定化することができる。

【0051】 また、本発明のマイクロピペットにおいては、図3に示すように、突起8を有する多角形の、隣接する突起8の頂点（例えば、P、Q）と中心Oとを結んだ直線がなす角度θが、1度～120度であることが好ましく、3度～72度がさらに好ましい。この角度が1度未満であると、円形に近似してしまい、本発明の効果を十分に發揮することができないことがある。また、120度を超えると、試料の吐出方向が不安定になることがある。

【0052】 また、本発明のマイクロピペットにおいては、図3に示すように

、突起8を有する多角形状又は王冠形状の辺の合計長さL1が、これと同一面積の円の円周長さL2の1.1倍以上($L_1/L_2 \geq 1.1$)であることが好ましく、1.15倍以上であることがさらに好ましい。1.1倍未満であると、円形に近似してしまい、いわゆるサテライトが発生することがあり、また、ノズル部の吐出口端24近傍で、試料が乾燥し、吐出不良や吐出曲がりを引き起こすことがある。

【0053】 また、本発明のマイクロピペットにおいては、図2及び図5(a)、(b)に示すように、ノズル部における貫通孔5の断面積の、連続的に漸減する変化率が、貫通孔の試料導入口端23から試料排出口端24に向かって所定距離離れた第2の地点(E-E線及びF-F線)までの変化率よりも、第2の地点(E-E線及びF-F線)から試料排出口端24までの変化率のほうが大きくなるように構成することが好ましい。このように試料排出口端24に向かって2段に絞り込むことによって、試料を整流する効果をさらに向上させるとともに、試料排出口端24における試料流速向上の効率を高めることができる。ここで、第2の地点の範囲としては、試料導入口端23と試料排出口端24との中間であって、試料導入口端23から試料排出口端24までの距離を1とした場合、試料導入口端23から、0.3~0.7のところが好ましい。なお、第2の地点は、図5(b)に示すように、第1の地点と一致させることが、サテライトの発生防止及び整流効果の点で好ましく、また、試料導入口端23及び試料排出口端24を含んだ貫通孔の形成も容易となる。ノズル部材の材質がPET、ポリイミド等の樹脂の場合は、レーザー(例えば、エキシマレーザー、高次(3次以上)のYAGレーザー)加工を好適に用いることができるが、このような漸減する比率が変化する場合は加工の途中でレーザーのパワーを変化させることで対応すればよい。すなわち、図2、図5(a)、(b)に示すように試料導入口端23から第2の地点までの変化率が、第2の地点から試料排出口端24のそれより小さい場合は、レーザーの照射を試料導入口端23から行ない、加工の途中で、レーザーのパワーを減ずればよい。

【0054】 なお、貫通孔の断面積を連続的に漸減させる場合の、貫通孔の軸方向の断面形状については、図7に示す紡錘形のような、その漸減率を試料排出

口端24に向かい連続的に増加させた形状であってもよく、その場合の加工法は、例えば、レーザー照射を試料導入口端23から行ない、そのパワーを連続的に減少させる方法が採られる。

【0055】 また、本発明のマイクロピペットにおいては、図1に示すように、ノズル部における貫通孔5の内面の表面粗さが、貫通孔5の試料導入口端23が形成された面38のそれよりも粗く構成することが好ましい。貫通孔5の内面の表面粗さが、他の部位のそれよりも粗いことにより、試料を吐出し終わった後の貫通孔5内に残った試料の液面のゆれ（振動）が速やかに減衰・収束するため、液面が残存することによるサテライトの発生を防止することができる。

【0056】 また、本発明のマイクロピペットにおいては、ノズル部における貫通孔の試料排出口端近傍の表面に、撥液処理を施した構成とすることが好ましい。貫通孔の試料排出口端近傍の表面の撥水性を高めることと、他の構成との相乗効果によって、液滴の切れをさらに向上させることができる。

【0057】 また、本発明のマイクロピペットにおいては、ピペット本体の、少なくともキャビティ形成位置及び圧電／電歪素子設定位置に対応した部位が、ジルコニアセラミックスからなるように構成することが好ましく、ピペット本体の全ての部位をジルコニアセラミックスからなるように構成することがさらに好ましい。この場合、ジルコニアセラミックスは、グリーンシート積層焼成法を用いて作製されたものであることが好ましい。ジルコニア、中でも、安定化ジルコニアと部分安定化ジルコニアは、薄板状としても機械的強度が大きいこと、韌性が高いこと、酸／アルカリ溶液に耐久性があること、及び圧電膜や電極材との反応性が小さいこと等から、本発明に用いられるピペット本体の材質として優れている。

【0058】 また、ピペット本体の、試料吐出口を形成した部位を、成形性及びコストの面から、樹脂からなるように構成してもよい。

【0059】 また、本発明に用いられる圧電／電歪素子を、ジルコン酸鉛、チタン酸鉛及びマグネシウムニオブ酸鉛からなる群から選ばれる少なくとも1種の鉛化合物を主成分として含有する圧電／電歪膜から構成することが好ましい。すなわち、このような圧電／電歪膜は、高い電機機械結合係数と圧電定数とを有し

、圧電膜の焼結時におけるピペット本体（ジルコニアセラミックス）との反応性が小さく、安定した組成のものが得られる点から好ましい。

【0060】 また、本発明のマイクロピペットにおいては、図8に示すように、1個のピペット本体1内に、試料注入口2、キャビティ3、試料吐出口6、及び圧電／電歪素子7を、それぞれ複数箇所形成し、それぞれの圧電／電歪素子7の上部電極18と下部電極20が一括して引き出したものであってもよい。このように構成することによって、全体がコンパクトでかつ試料吐出口を精度よく、高密度に配置することが可能になり、異種の試料を同時に吐出することができるため、DNAマイクロアレイ等のバイオチップを効率的に生産性よく作製することができる。

【0061】 また、本発明のマイクロピペットは、キャビティ及び圧電／電歪素子を形成した一つ以上の第1のピペット部材と、試料注入口及び試料吐出口のうちの少なくともいずれか一方の一つ以上を形成した一つ以上の第2のピペット部材とを接合して得られる、一つ以上の接合体を固定一体化してなるものであってもよい。具体的には、図12に示すように、キャビティ3と圧電／電歪素子7及び導入孔35がそれぞれ一個ずつ形成された第1のピペット部材1cと、試料注入口2と2個所の連通路36がそれぞれ一個ずつ形成された第2のピペット部材1aと、試料吐出口6が複数個形成された第2のピペット部材1bを別個に作成した後、互いに接着材37により接合一体化したものを挙げることができる。

それぞれの材質としては、例えば、第1のピペット部材1cは、部分安定化ジルコニア、第2のピペット部材1aは部分安定化ジルコニア、第2のピペット部材1bはPET樹脂からなるものを挙げができる。互いの接合は、機械的に行ってもよいが、接着材や熱拡散等による接合が、流路のシール性を保つ点から好ましい。

このように構成することによって、ピペット本体の材料選択の範囲を広げ、各部位に最適な材料を選ぶことが可能となる一方、素子の歩留まりの向上、試料吐出口の高精度、高密度配列、複数種試料同時吐出が同時に可能になる。

【0062】 図9(a)、(b)に示すように、本発明のマイクロピペットは、いわゆるエッジタイプと呼ばれるものであってもよい。すなわち、1個のピペ

ット本体1内に、試料注入口2、キャビティ3、試料吐出口6、及び圧電／電歪素子7を、それぞれ複数箇所形成している。そして、このマイクロピペットでは、試料吐出口6がピペット本体1の側面に形成されており、通常のピペット25から試料注入口2に注入された試料は、ピペット本体1内の連通路26を通ってキャビティ3内に流入・充填しており、圧電／電歪素子7の駆動によってキャビティ3内の体積を変化させて、キャビティ3内に充填されている試料の一定量を試料吐出口6から吐出させる。試料吐出口6がピペット本体1の側面に形成されると、平板状のピペット本体1を縦に並べて、試料吐出口6の密度を容易に上げることができる。

【0063】 また、図10(a)、(b)に示すように、本発明のマイクロピペットは、図8(a)、(b)、図11(a)～(d)及び図12(a)、(b)と同様に、いわゆるフェースタイプと呼ばれるものであり、図9(a)、(b)と同じく、1個のピペット本体40内に、試料注入口2、キャビティ3、試料吐出口6、及び圧電／電歪素子7を、それぞれ複数箇所形成したものであってもよい。そして、このマイクロピペットでは、試料吐出口6がピペット本体1の主平面に形成されている。キャビティ3と試料注入口2との間は、導入孔27及び連通路28でつながっている。そして、試料注入口2が他方の主平面に形成されている。このような構成では、エッジタイプに比べ吐出口の形成が容易で精度よく行えるとともに、試料吐出口6がピペット本体1の主平面に形成されていると、試料吐出口6を形成した平板と平行して基板をセットできることが可能になり、液滴の吐出距離を一定にすることが容易になり、液滴の形状を安定化させることができ。また、ピペット本体1の異なる主平面にそれぞれ試料注入口2と試料吐出口6を形成することにより、試料注入口2から、試料吐出口6までの流路の長さが殆ど平板の厚さ距離だけで済み、試料液体の流路パスが短く、単純なものとなって、流路途中で気泡がひっかかり、吐出不良を起こす等の不具合を低減することができ、さらに試料の使用効率を向上させることができる。

【0064】 また、本発明のマイクロピペットは、ピペット本体を平板状物から構成してなり、試料吐出口をこのピペット本体の側面又は主平面に形成してなるものであるが、このように構成する（ピペット本体を平板状にする）ことによ

って、ピペット本体の製造が、後述するようなグリーンシート等の積層で行うことができ、また、全体を薄くコンパクトにすることができる。さらに、図13に示すように、ピペット本体1を平板状とし、試料吐出口6をピペット本体1の一方の主平面に形成し、試料注入口2を他方の主平面に形成し、圧電／電歪素子7を、試料吐出口6と同じ主平面内に形成してもよい。この場合、試料注入口2を形成した面には試料注入口2以外のものは形成していないため、試料の注入が行き易いという利点を有する。

【0065】 また、本発明のマイクロピペットは、前述のマイクロピペット（ユニット）の複数を、固定治具に固定したマイクロピペット複合体としたものであってもよい。

例えば、図11に示すように、1個のピペット本体1内に、試料注入口2、キャビティ3、試料吐出口6、及び圧電／電歪素子7を、それぞれ1個形成したユニット（図11（c）、（d）参照）を複数個、固定治具29（後述の押さえ治具30、位置決めピン31及び固定板32の総称）に固定した例を示している。各ユニットは、試料注入口2へ試料を供給するチューブ（連通路）33を保持する押さえ治具30と位置決めピン31で固定板32に固定されている。なお、図11（a）、（b）では、固定を押さえ治具30の両端をネジ34で固定板32に締め付けることで行っているが、固定法は、ネジ、バネ等で機械的に行う他、接着材等で行ってよい。

このように構成することによって、ピペット本体1個1個の製造が容易になり、歩留まりを向上させることができる。

【0066】 また、本発明のマイクロピペット複合体は、複数の試料注入口を、1のキャビティに接続してなるものであってもよい。具体的には、図14に示すように、2個の試料注入口2が、1個のキャビティ3に接続されている一例を挙げることができる。この例では、圧電／電歪素子7は、試料注入口2と同じ主平面内に形成され、試料吐出口6は、他方の主平面に形成されたものを挙げることができる。

このように構成することによって、複数個の試料注入口より試料又は置換液をタイミングを調整して、吸引、押し出すことにより、キャビティ内を確実に充填

することができる。

【0067】

I I . 分注装置

本発明の分注装置は、前記マイクロピペットを複数又は前記マイクロピペット複合体を1以上備えてなり、ピペット本体に形成した試料吐出口を縦横に整列配置し、これらの試料吐出口からそれぞれ異種の液体試料を吐出させることを特徴とする。

このように構成することによって、一度に数多くの種類の試料を同時に供給でき、また、一部に不良の生じたピペットを容易に交換することができる。さらに、試料吐出口が縦横に整列配置されていることにより、例えば、DNAマイクロアレイ等のバイオチップのように二次元的に整列固定された微小スポットが必要な場合に好適に適用することができる。

【0068】 具体的には、図15に示すように、本発明の分注装置55は、図16(a)、(b)に示す試料注入口52、試料吐出口51を有するマイクロピペット50の複数個(50a、50b、50c)を試料試料吐出口を下方向に向けた状態で立設させて構成したものを挙げることができる。すなわち、各マイクロピペット50a、50b、50cは、それぞれの試料注入口52a、52b、52cを上側とし、試料吐出口51a、51b、51cを下側とし、かつこの試料吐出口51a、51b、51cが縦横に整列配置されて、試料吐出口51a、51b、51cからそれぞれ異種の液体試料を吐出させるようになっている。また、ピペット本体に形成した試料吐出口51a、51b、51cのそれぞれの外側に、試料吐出口の中心軸と共に軸の開口を有する薄板からなる異方飛行滴遮蔽板53を備えてなる構成としてもよい。異方飛行滴遮蔽板53を備えてなる構成とすることによって、万一吐出液滴の吐出方向が曲がってしまった場合であっても、基板に液滴が到達することができなく、スポットティングの位置ずれや、隣のスポットと混じりあう不良を防止することができる。

【0069】 このような構成を有する分注装置55においては、図17に示すように、試料注入口52a、52b、52cのそれぞれに、異種の液体試料を別個に充填した第1のカートリッジ60を備えてなり、試料吐出口51a、51b

、51cから異種の液体試料を吐出させ得る構成としたものが、試料の使用効率を高めることができる点で好ましい。

【0070】 また、試料注入口のそれぞれに、水性溶媒（例えば、生理食塩水）又は有機溶媒を充填した第2のカートリッジを備えてなり、ピペット本体に形成した試料注入口から試料吐出口までの連通空間を洗浄し得る構成としたものが、数千から数万種類という多種類のDNA断片等を汚染なく、しかも純度よく微小スポットに吐出することができる点から好ましい。なお、カートリッジから試料注入口のそれぞれに試料等を注入する方法は、カートリッジを試料注入口にセットした後、針等でカートリッジの底を開封する方法の他、予め、試料注入口近傍に針等を形成し、セットと同時に開封されるようにしてもよい。また、開封後気体等を圧送し、試料等を強制的に押し出す機構を加えてもよい。

【0071】

I I I . バイオチップの製造方法

本発明のDNAマイクロアレイ等のバイオチップの製造方法は、前記分注装置を用いたことを特徴とする。

一般に、DNAマイクロアレイにスポットされるDNA断片を含んだ試料は、図17に示す第1のカートリッジ60中でそのDNA断片を増幅して用いられるが、ピペット本体中に、ある程度の空間を有する本発明のマイクロピペットを用いた本発明の分注装置を用いた場合には、マイクロピペット内で増幅を行ってもよい。

【0072】 本発明のバイオチップの製造方法としては、例えば、DNAマイクロアレイの場合、下記の方法を挙げることができる。

第1のカートリッジ60中でそのDNA断片を増幅して用いる場合は、予め置換液である緩衝液の入ったカートリッジをセット後、各マイクロピペット内のキャビティに緩衝液を充填し、さらに試料注入口に、DNA断片試料の入ったカートリッジをセットし、針等でカートリッジの底を開封、試料注入口に試料を注入する。その後圧電／電歪素子を駆動させ試料吐出口より予め充填した緩衝液を吐出しながら、キャビティ内を試料で層流置換する。

置換の終了点は、吐出した緩衝液の容量によって判断してもよいが、リレー切

り替えにより、圧電／電歪素子をキャビティ内の液体の粘度、比重を検出するセンサとして作用させる方法で感知する。置換の終了後は、求められるスポット径に応じた液滴量に対応した圧電／電歪素子の駆動条件にて駆動し、スポットティングを繰り返すことによりDNAマイクロアレイを製造する。通常一つのスポットを形成するのに、マイクロピペットから一～数百滴を吐出して行う。なお、試料注入口中の試料の量が減少したら、緩衝液を追加し、流路中に気泡が入らないようにし、吐出を続けることにより、試料をマイクロピペット内に残すことなく使い切ることができる。試料から置換液への置換の完了（試料吐出の終了）は、同じく、圧電／電歪素子を用いた液体の粘度、比重の検出で行う。また、予め濃度を薄めた試料溶液を用い、基板上に微小滴を形成しながら、溶媒を乾燥させていく方法も好適である。このような方法で行うことにより、より流路中に残存する試料の量を低減することができ、試料の使用効率を向上させることができる。

さらに、使用する置換液及び試料は、予め脱気操作を通して溶液中の溶存気体を取り除いたものを用いることが好ましい。このような溶液を用いることにより、流路内に溶液を充填する際に、流路途中に気泡が引っかかり充填が不備になる場合であっても、その気泡を溶液中に溶かし込んで不具合を回避することができるとともに、吐出の途中に流体中に気泡が発生し、吐出に関する不具合の発生を防止することができる。

【0073】

【実施例】 以下、本発明を実施例によってさらに具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例によっていかなる制限を受けるものではない。

図4に示す実施例は、ノズル部材として厚さ38μmのPET樹脂からなるシートを、加工法としてエキシマレーザーを用いて貫通孔を加工した。貫通孔の軸方向に対して直角方向の断面形状の形成には、予め断面形状の相似形状を形成したマスクをレーザー照射軸の途中にセットする、いわゆるマスク法を用いた。レーザーの照射は貫通孔の試料導入口端23側から排出口端24側方向に行ない、貫通孔の試料導入口端23での形状が、図3(a)に示すように、突起形状の内接円直径L4が75μm、隣接する突起の頂点と中心とを結んだ直線がなす角度θが15度、突起部8の直線距離L3が13μmとなるようにマスクを設計した

。貫通孔の軸方向に対して平行方向の断面形状が試料排出口端に向かって先細りのテーパー形状をなすように形成するため、マスク法を用いた上でレーザーのパワーを調整した。すなわち、レーザーのパワーを、レーザーの照射によって数秒でに貫通孔が形成される値 (30 mJ/sec) に比べ低い値とし、時間をかけ加工した。具体的には、レーザーパワーを 20 mJ/sec とし、 20 sec かけて貫通孔が形成できるように調整することによりテーパー形状を形成した。そして、貫通孔の試料排出口端 24 での形状を、図3 (a) に示すように、突起形状の内接円直径 L_4 が $50 \mu\text{m}$ 、隣接する突起の頂点と中心とを結んだ直線がなす角度 θ が 15 度、突起部の直線距離 L_3 が $8 \mu\text{m}$ となるようにした。

また、図6に示す実施例の場合は、同様の装置において、円形のマスクを用いマスク法にて作成した。その際のレーザーパワーは、上記条件より低くとることにより、試料導入口端 23 では、略円形、試料排出口端 24 では突起を有する形状とした。具体的には、レーザーパワー 10 mJ 、照射時間 20 sec として、貫通孔の試料導入口端 23 では直径が $80 \mu\text{m}$ の円形、試料排出口端 24 では、図3 (a) に示すように、突起形状の内接円直径 L_4 が $50 \mu\text{m}$ 、隣接する突起の頂点と中心とを結んだ直線がなす角度 θ が 15 度、突起部 8 の直線距離 L_3 が $8 \mu\text{m}$ となるようにした。

図4、6に示す貫通孔を有するノズル部を用いたマイクロピペットにて、塩基対長 1000 bp のDNA断片を $1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ の濃度で $\times 1 \text{ TE}$ バッファー（緩衝液）に溶解した試料を連続して吐出させた場合、十万回吐出させてもいわゆるサテライトは発生しなかった。また、一連の吐出作業の途中でノズルが乾燥し吐出不能になることもなく、その良好な吐出性能は、吐出間隔を 10 秒以上に広げても変わらなかった。

また、吐出速度が早すぎて、スライド基板に付着する際に液滴の勢いが大きく、しぶきを発生することを防ぐため、圧電／電歪素子の変形速度を低減し、液滴の吐出速度を低減し、従来の $1/2$ 以下 (4 m/sec 以下) にした場合においても、サテライトが発生することが無く、また、吐出方向が曲がる等の吐出不安定化は生じなかった。

【0074】

【発明の効果】 以上説明したように、本発明によって、所定の基板上に微小体積の液滴を高密度に整列固定する作業（微小スポットの形成作業）を伴うDNAマイクロアレイの製造等の分野で好適に用いられる、微小スポットの形成作業の高精細化が可能で、得られる製品品質の向上を図ることができるマイクロピペット、このマイクロピペットを用いた分注装置及びバイオチップの製造方法を提供することができる。従って、このようなマイクロピペットを用いた分注装置及びこのよう分注装置を用いたバイオチップの製造方法によって、1回に数百から数万の異種の試料を効率よく分注して微小スポットを形成することが可能となり、バイオチップの製造等の生産性を飛躍的に向上させることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明のマイクロピペットの一の実施の形態を模式的に示し、(a)は全体断面図で、(b)その詳細図、(c)はキャビティ部分の斜視図である。

【図2】 図1(a)のA部拡大図である。

【図3】 図2のB-B線断面図で、本発明のマイクロピペットのノズル部における貫通孔の、軸方向に対して直角方向の断面形状を模式的に示す説明図で、(a)は多角形状の場合、(b)は王冠形状の場合をそれぞれ示す。

【図4】 本発明のマイクロピペットの一の実施の形態（一の実施例）におけるノズル部における貫通孔の突起の状態を模式的に示す斜視図である。

【図5】 本発明のマイクロピペットの他の実施の形態におけるノズル部における貫通孔の形状を模式的に示す断面図で、(a)は第1の地点と第2の地点とが異なる場合、(b)は第1の地点と第2の地点とを一致させた場合をそれぞれ示す。

【図6】 本発明のマイクロピペットの他の実施の形態（他の実施例）におけるノズル部における貫通孔の突起の状態を模式的に示す斜視図である。

【図7】 ノズル部における貫通孔の、漸減する断面積の変化の例を模式的に示す説明図である。

【図8】 本発明のマイクロピペットの他の実施の形態を模式的に示し、(a)は平面図、(b)は(a)のG-G断面図である。

【図9】 本発明のマイクロピペットの他の実施の形態を模式的に示し、(a)

は平面図、(b)は(a)のH-H断面図である。

【図10】 本発明のマイクロピペットの他の実施の形態を模式的に示し、(a)は平面図、(b)は(a)のI-I断面図である。

【図11】 本発明のマイクロピペットの他の実施の形態を模式的に示し、(a)は平面図、(b)は側面図、(c)は各複合体の平面拡大図、(d)は(c)の断面図である。

【図12】 本発明のマイクロピペットの他の実施の形態を模式的に示し、(a)は平面図、(b)は(a)のJ-J断面図である。

【図13】 本発明のマイクロピペットの他の実施の形態を模式的に示し、(a)は平面図、(b)は(a)のK-K断面図である。

【図14】 本発明のマイクロピペットの他の実施の形態を模式的に示し、(a)は平面図、(b)は(a)のL-L断面図である。

【図15】 本発明の分注装置の一の実施の形態を模式的に示す斜視図である。

【図16】 図15の分注装置に用いたマイクロピペットを模式的に示し、(a)は平面図、(b)は(a)のM-M断面図である。

【図17】 分注装置にカートリッジを取り付ける状況を模式的に示す斜視図である。

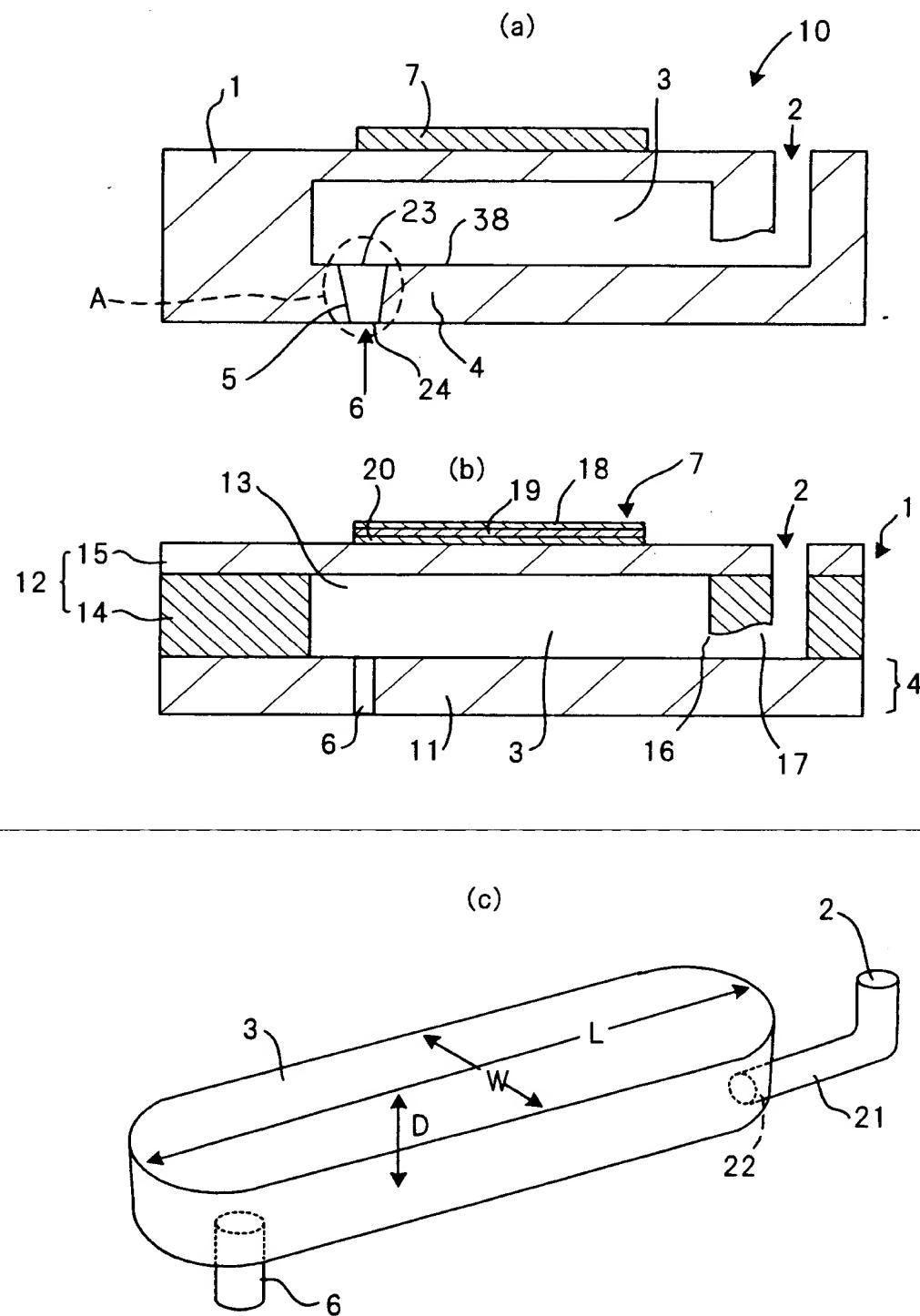
【符号の説明】

1 …ピペット本体、1a～1c…ピペット部材、2…試料注入口、3…キャビティ、4…ノズル部、5…貫通孔、6…試料吐出口、7…圧電／電歪素子、8…突起(部)、10…マイクロピペット、11…ノズルプレート、12…ポンプ部、13…窓部、14…スペーサープレート、15…閉塞プレート、16…導入孔、17…連通孔、18…上部電極、19…圧電／電歪膜、20…下部電極、21…連通路、22…導入孔、23…試料導入口端、24…試料排出口端、25…通常のピペット、26…連通路、27…導入孔、28…連通路、29…固定治具、30…押え治具、31…位置決めピン、32…固定板、33…連通路、34…ネジ、35…導入孔、36…連通路、37…接着剤、38…試料導入口端が形成された面、50a～50c…マイクロピペット、51a～51c…試料吐出口、52a～52c…試料注入口、53…異方飛行滴遮蔽板、55…分注装置、60…第1

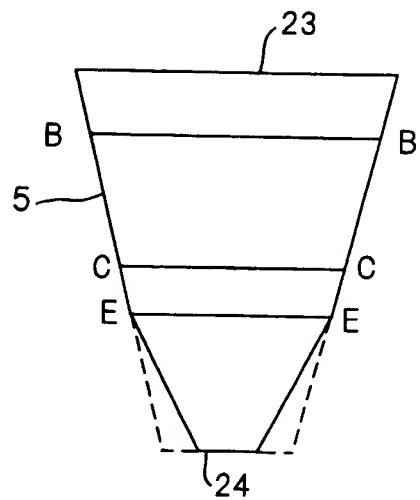
のカートリッジ。

【書類名】 図面

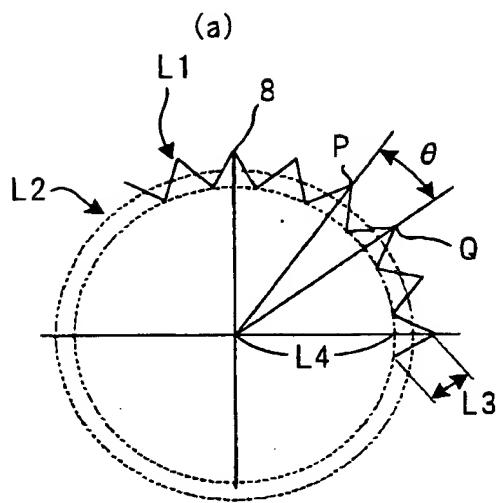
【図1】



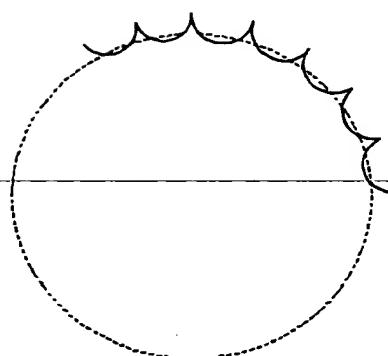
【図2】



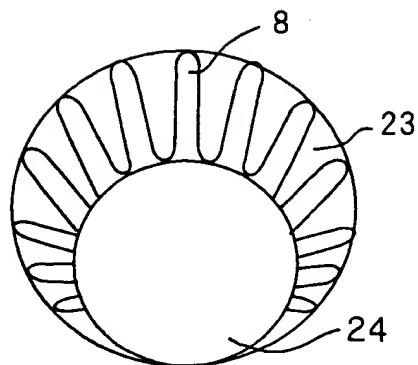
【図3】



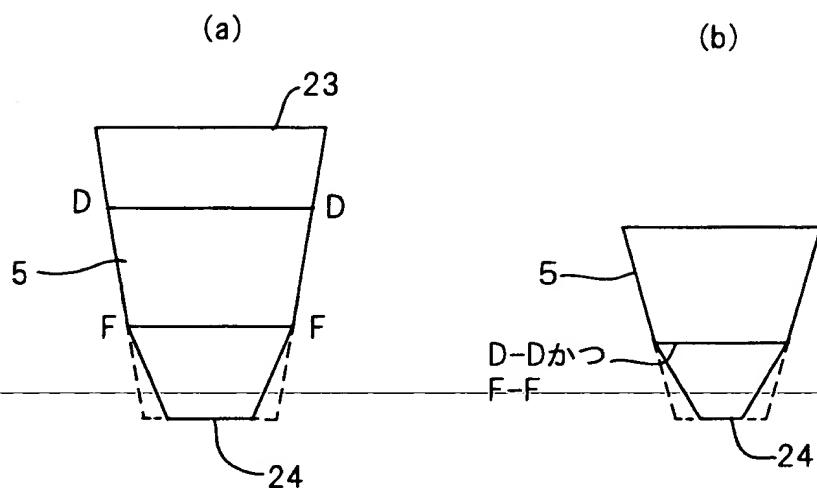
(b)



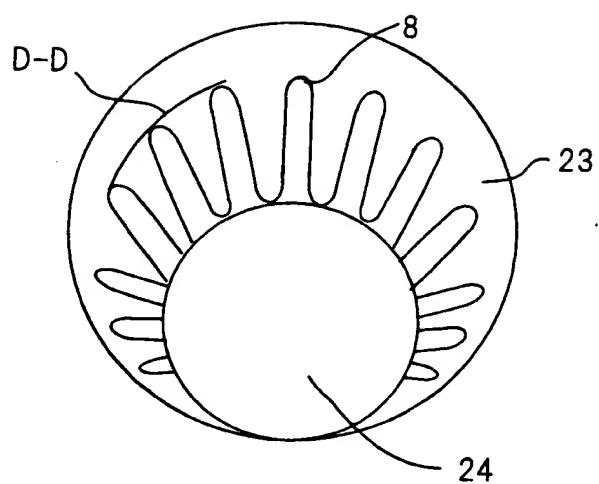
【図4】



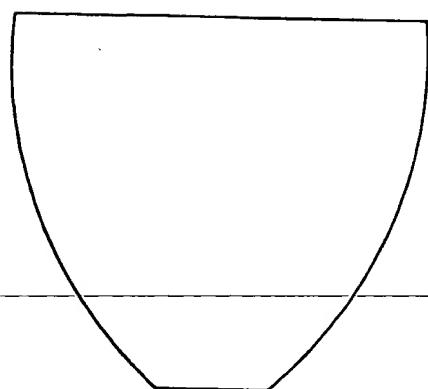
【図5】



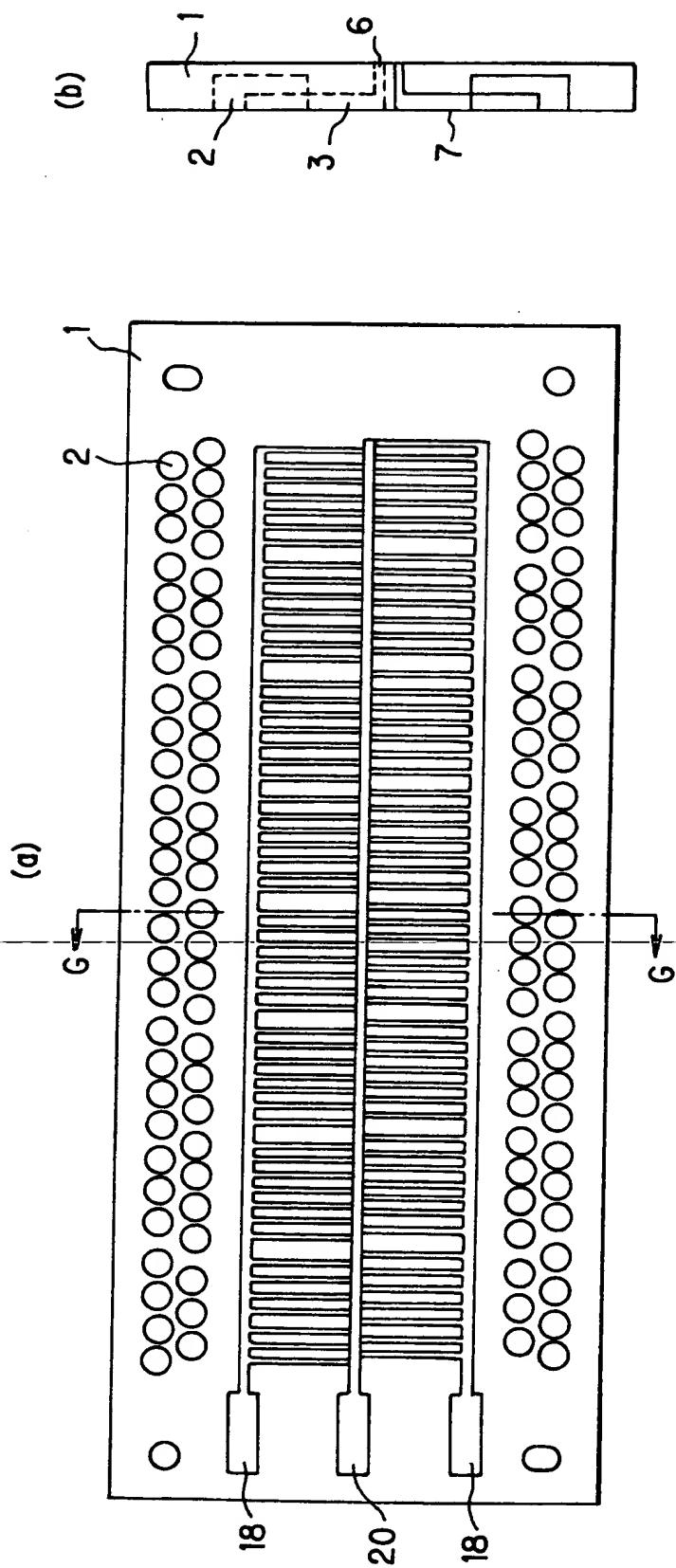
【図6】



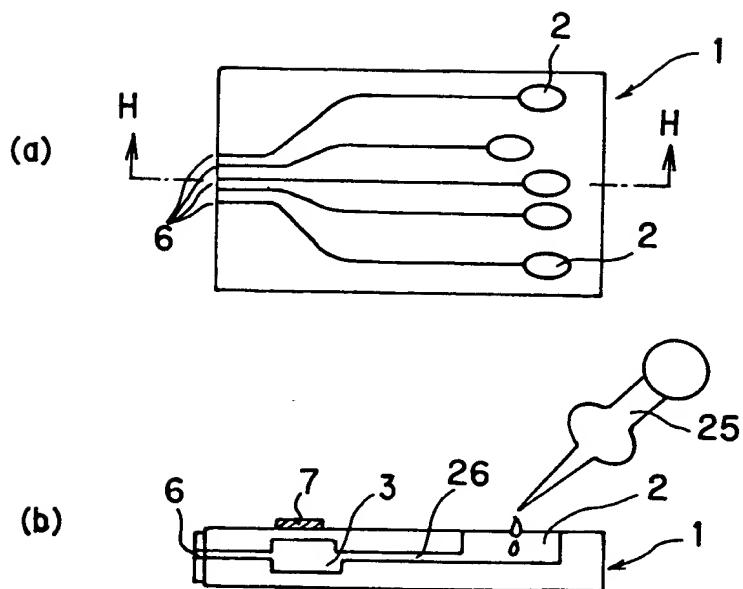
【図7】



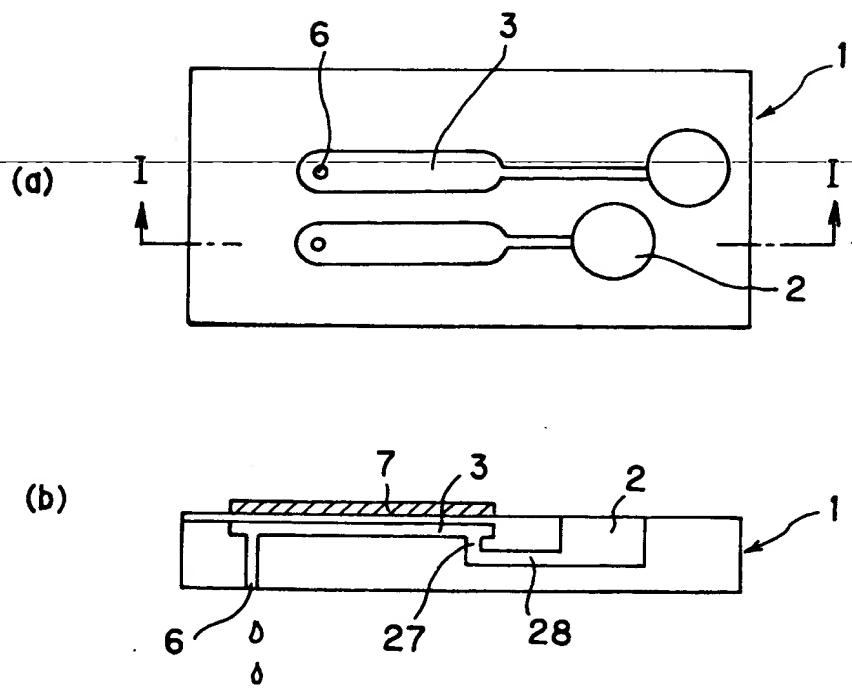
【図8】



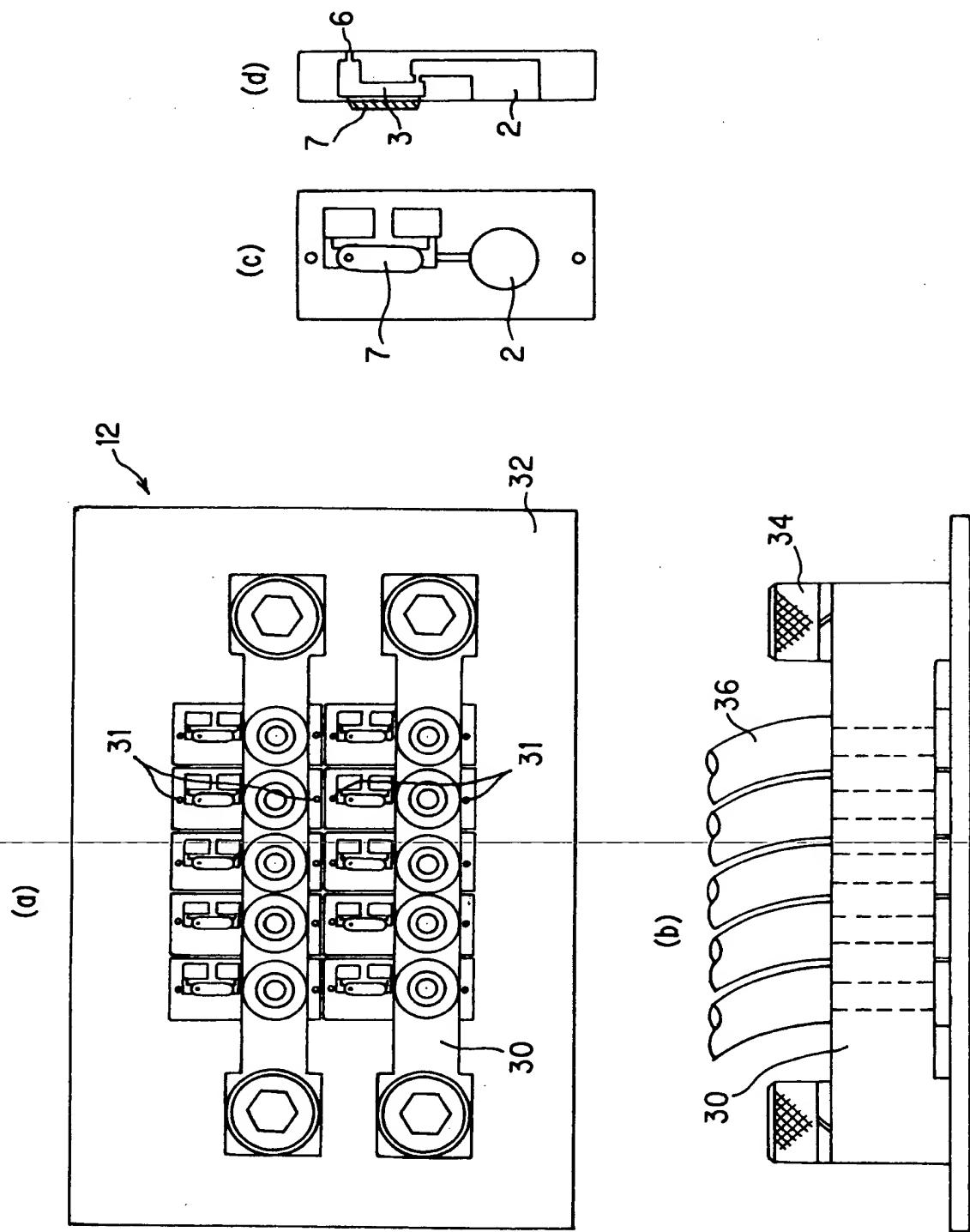
【図9】



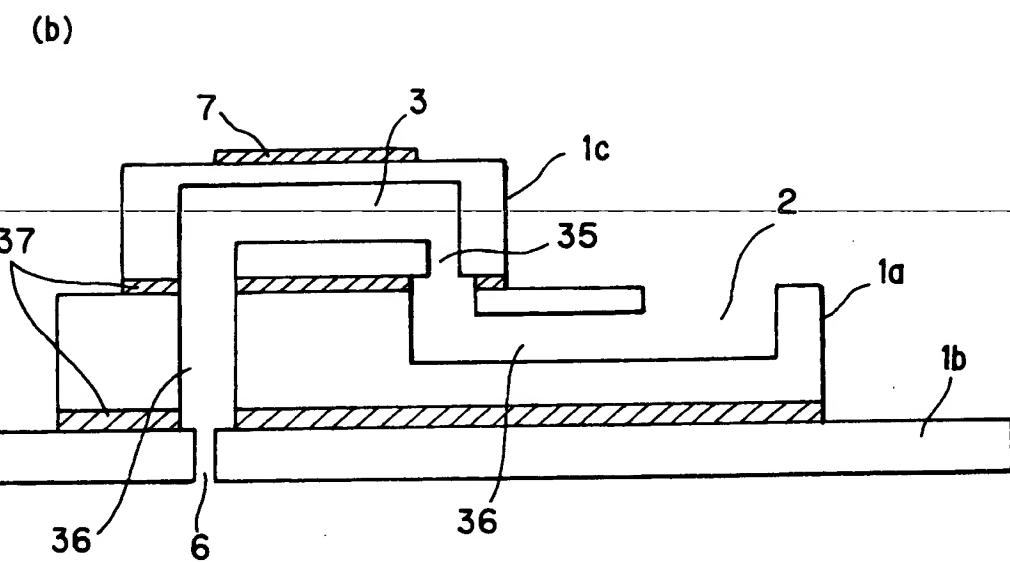
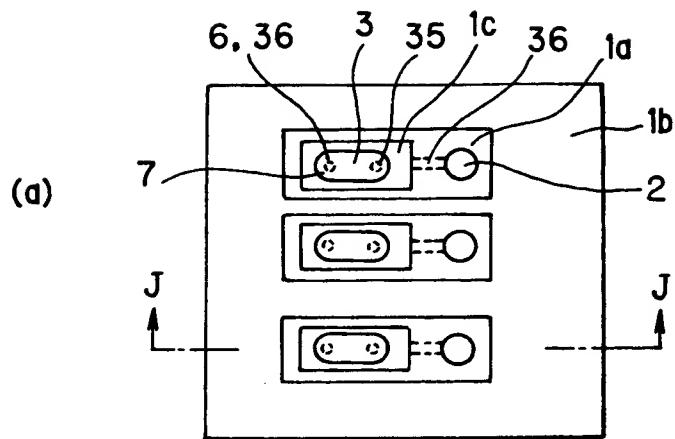
【図10】



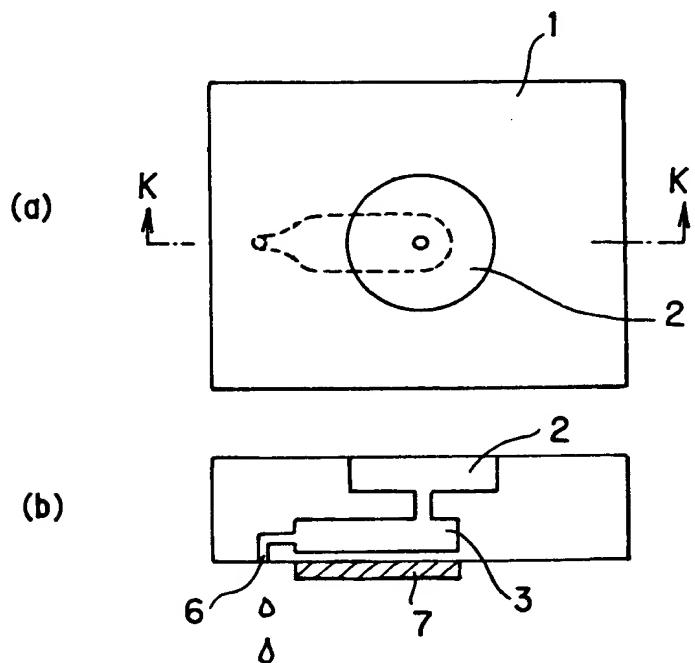
【図11】



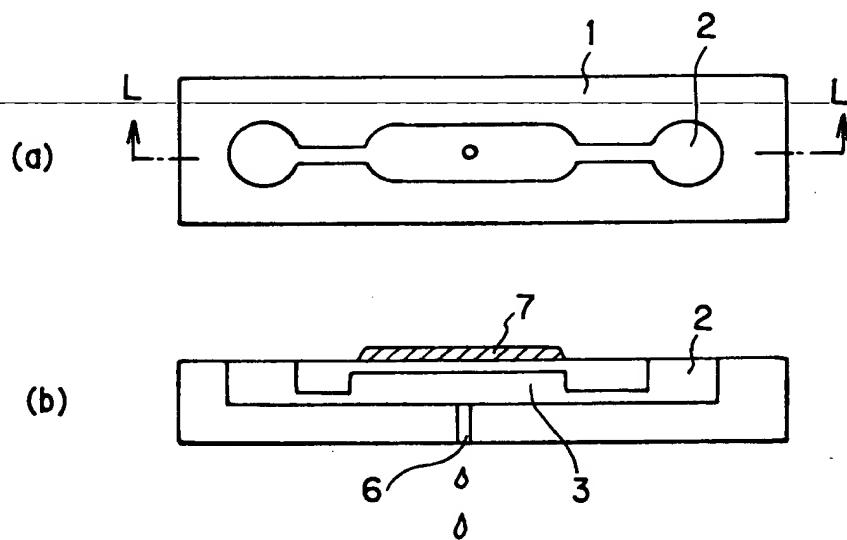
【図12】



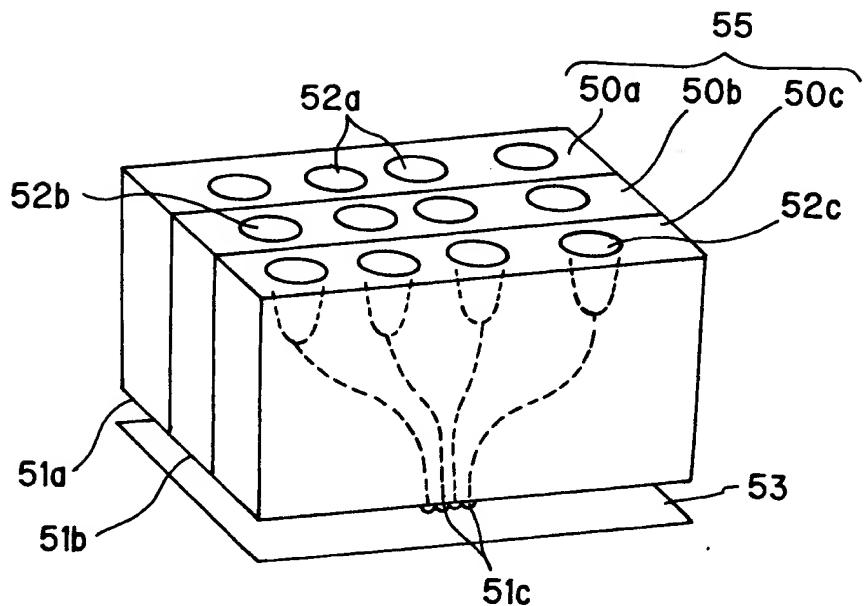
【図 1 3】



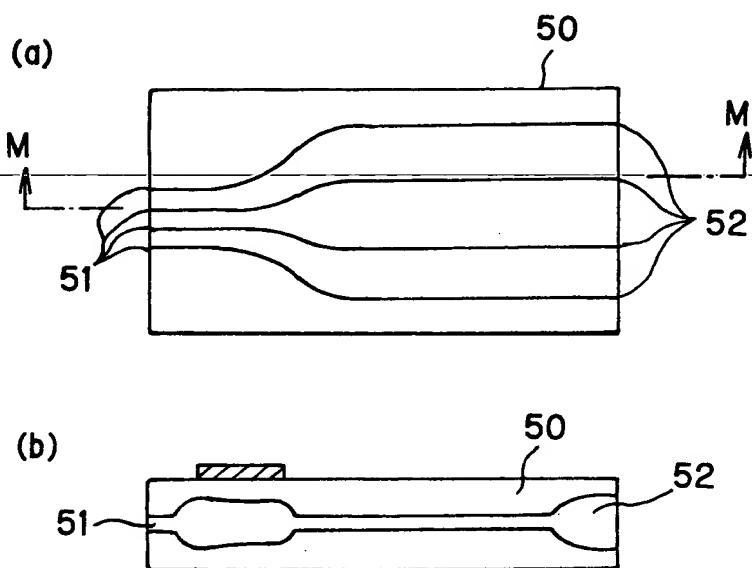
【図 1 4】



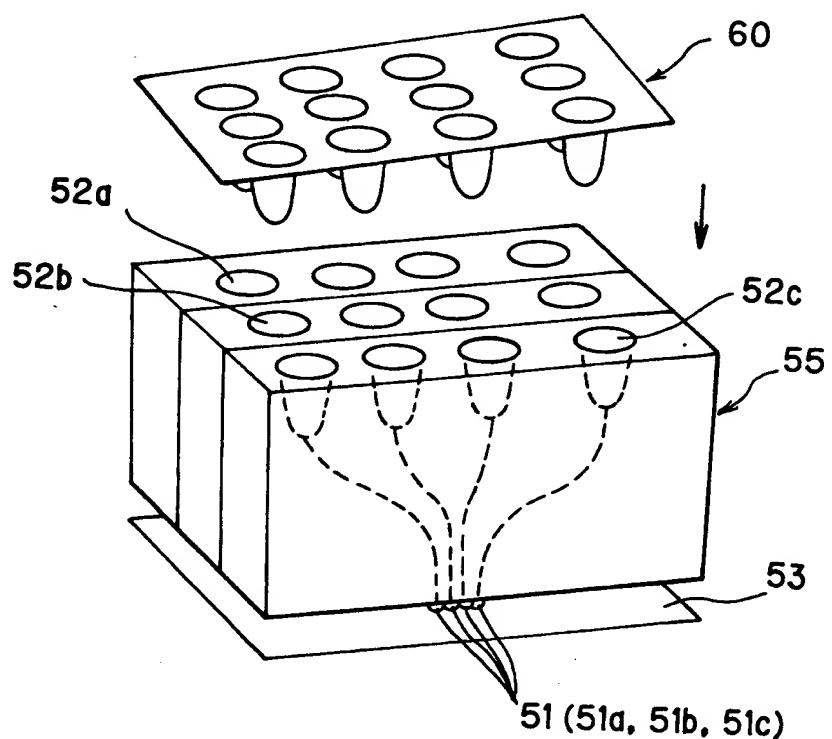
【図15】



【図16】



【図17】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 所定の基板上に微小体積の液滴を高密度に整列固定する作業を伴うDNAマイクロアレイ等のバイオチップの製造等の分野で好適に用いられる、微小スポットの形成作業の高精細化が可能で、得られる製品品質の向上を図ることができるマイクロピペット、分注装置及びバイオチップの製造方法を提供する。

【解決手段】 ピペット本体1に、ピペット本体1の外部から試料を注入する試料注入口2と、注入された試料を導入しあつて一時貯留し得るキャビティ3と、貯留された試料をノズル部4の貫通孔5を経由して外部に吐出する試料吐出口6とを形成してなるとともに、ピペット本体1の外面上に圧電／電歪素子7を設けてなり、圧電／電歪素子7の駆動によりキャビティ3内の体積を変化させ、キャビティ3内に貯留された試料の一定量を試料吐出口6から吐出させるマイクロピペット10であって、ノズル部4における貫通孔5の、軸方向に対して直角方向の断面形状が、中心から放射状に突き出た3個以上の突起を有するとともに、内角が鋭角と鈍角とを有する多角形状又は突起と突起とを曲線で結んだ王冠形状であり、また、その断面形状の面積（断面積）が、貫通孔5の試料導入口端23から試料排出口端24まで、略相似形を保持しつつ連続的に漸減するように変化してなることを特徴とするマイクロピペット。

【選択図】 図1

出願人履歴情報

識別番号 [000004064]

1. 変更年月日 1990年 8月24日

[変更理由] 新規登録

住 所 愛知県名古屋市瑞穂区須田町2番56号
氏 名 日本碍子株式会社